

TESIS
1110

CONSULTA EN SALA
UNIVERSIDAD DEL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA

**“Alteraciones de la fagocitosis por HIV. Estrategias para
su recuperación.”**

Trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Medicina.

USAL
UNIVERSIDAD
DEL SALVADOR

Autor: Carlos S.G.A. Barragán

Directora de Tesis: Prof. Dra. Kumiko Eiguchi de Palmero

CONTENIDOS

Copia de la Resolución Decanal

	Página
Agradecimientos	I
Glosario	II-V
 Capítulo 1:	
Introducción y estado de los conocimientos actuales.....	1 – 28
 Capítulo 2:	
Hipótesis principal	29
Hipótesis secundarias	29
Objetivos.....	29
Material y Métodos.....	30 – 45
 Capítulo 3	
Resultados.....	46 - 111
 Capítulo 4	
Discusión	112 – 132
Conclusión final	133 - 134
 Capítulo 5	
Apéndice A: Microfotografías.....	135-150
Apéndice A: Fotos de PCR.....	151-154
Apéndice B Tablas accesorias.....	155-164
Bibliografía	165-182

Agradecimientos

En primer lugar agradezco a Dios el permitirme de algún modo explorar parte de su maravillosa creación con mi limitado y modesto entendimiento.

A continuación las personas. Este trabajo es el resultado de 10 años de estudios sobre el tema y han sido muchos los que me permitieron llevarlo a cabo, con su estímulo, aliento, ayuda material y moral, mencionarlos a todos no es posible.

Agradezco al Dr. J. Benetuci su confianza y ayuda, el cual me permitió utilizar las instalaciones del Laboratorio de Retrovirus de Fundai, a mis colaboradores directos: Las Dras: Ana Cañizal en el área de Biología molecular, Sandra Sapia y Adriana Galeano en el campo de la citometría de flujo, al Prof Dr. Ricardo Negroni que me facilitó la cepa de C. a con la que trabajé y me presentó con mi directora de tesis, al Dr. Carlos Sosa que me inició en el conocimiento de los cultivos celulares, al Prof. Dr. Victor Grisaschi el cual me alentó a seguir con el estudio de la fagocitosis cuando lo inicié hace 11 años, a los pacientes, muchos de ellos felices y entusiasmados en participar de esta investigación, generándome un motivo más para seguir adelante; para ellos fueron y serán mis esfuerzos.

Debo agradecer la paciencia de mi familia, en especial a mi hijo Pablo que con solo 9 años sacrificó muchas tardes de salidas acompañándome mientras yo elaboraba datos y el sentado a mi lado repasaba sus tareas escolares y también me alentaba a continuar.

Finalmente y en un lugar muy especial queda mi gratitud para mi Directora de Tesis, la Prof. Dra. Kumiko Eiguchi de Palmero, la cual con infinita paciencia y no menor caudal de conocimiento e ideas, me ayudo en forma invalorable a encausar este trabajo, para ella queda mi eterno reconocimiento.

Este trabajo está dedicado a los que fueron y a los que serán. Los investigadores que amaron a la humanidad y que vivieron en la virtud y abnegación. Ellos me guiaron, personas como Ilya Metchnikoff y Don Santiago Ramón y Cajal. Los que vendrán jóvenes llenos de amor por descubrir y despojados de vanidad. Si llegase a sus manos este humilde trabajo y les sirviera de algo mi esfuerzo entonces seré doblemente recompensado.

C. S. G. A. Barragán

Glosario

ADN: Ácido dextrorribonucleico.

AIDS: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Ag. p24: Proteína de la núcleo - capsida viral.

ARN: Ácido ribonucleico.

C5a: Fracción del complemento.

CD: Células dendríticas.

CDi: CD interdigitantes del bazo y ganglios linfáticos. **CD14:**

CDcg: CD de centros germinales.

CDt: CD del Timo.

CD11 y CD18 (LFA-1): Integrinas involucradas en procesos inflamatorios ubicadas en la membrana plasmática de los PMN.

CD34+: Cluster de diferenciación 34, sirve para denominar a las células stem cells.

CD62: Cluster de diferenciación 62, también llamado selectina.

CFU-C: Unidades formadoras de colonias.

CKR-5: (CCR-5) m RNA: Receptor identificado en las células CD4+ y en las CD34+, y puede permitir ingresar al HIV a la célula.

CL: Células de Langerhans de la piel y las células relacionadas de tejidos epiteliales.

CMV: Citomegalovirus.

CPA: Células presentadoras de antígenos.

CR3: C3bi receptor para complemento.

CTL-2: Cepa de células de laboratorio para controlar crecimiento de linfocitos.

CXCR4: Quimokina receptora fusina.

DDC: Zalcitabina.

d4T: Stavudina.

DDI: Didanosina.

ELAM-1: Molécula de adhesión leucocitaria endotelial-1.

EDTA: Sal disódica del ácido etilendiaminotetraácetico.

Epo: Eritropoyetina. **G-CSF:** factor estimulantes de colonias granulocítico.

E-selectina: Molécula de adhesión leucocito-endotelial.

FAL: Fosfatasa alcalina granulocitaria.

FL1, FL2, FL3: Detectores de fluorescencia del citómetro de flujo.

FSC: Fordward Scatter, tamaño celular.

GCV: Ganciclovir.

GM-CSF: factor estimulante de colonias granulocítico macrofágico.

GMP140: Proteína granular de membrana-140.

gp 160: Proteína del virus HIV-1.

G6PD: Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno.

HRP: Peroxidasa de rábano picante.

ICAM-1: Molécula de adhesión intracelular.

IgA: Inmunoglobulina A.

IgE: Inmunoglobulina E.

IgM: Inmunoglobulina M.

IL-1: Interleukina 1.

IL-2: Interleukina 2.

IL-3: Interleukina -3.

IL-4: Interleukina 4.

IL-5: Interleukina 5.

IL-6: Interleukina 6.

IL8: Interleukina 8.

IST: inductor de transcriptasa corto.

HIV-1: Virus de la inmunodeficiencia Humana tipo 1.

IFN γ : interferon γ .



INOS: Isoformas de óxido nítrico.

LCR: Líquido cefalorraquídeo.

LFA-1: antígeno asociado a función linfocitaria-1.

Linfocitos CD4: Linfocitos helpers o colaboradores.

LTB4: Leucotrieno B4 receptores CD31 del monocito.

LTBMC: Cultivos de largo tiempo de médula ósea.

LTC-IC: Células iniciadoras de cultivos.

Mac-1: Integrina (CD11b/CD18) presente en PMN con sitios de unión al fibrinógeno y a

MAI: Mycobacterium avium-intracellulare.

M-CSF: Factor estimulante de colonias macrofágico.

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad.

MIP-1 alfa: Macrófago-proteína inflamatoria- 1 alfa .

NADH: Nicotin - adenin – dinucleótido.

NADPH: Nicotin-adenin – di nucleótido fosforilado reducido.

NBT: Nitro blue de tetrazolio.

NO: Óxido nítrico.

O₂⁻: Anión superóxido.

OH⁻: Oxidrilos.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PAF: Factor activador plaquetario.

PAS: Técnica del ácido peryódico de Schiff para identificar glúcidos.

PBS: Buffer (tampón) de fosfatos.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

PMN: Neutrófilos polimorfonucleares.

ROIs: Compuestos intermediarios de oxígeno.

RPMI 1640: Medio de cultivo líquido.

SCF: Stem cells factor, Factor estimulante de células madre hemopoyéticas.

SCID: Síndrome de inmunodeficiencia combinada severa.

SIL-2R: Receptor soluble de IL-2.

S.I.V: Virus de la inmunodeficiencia simiana.

SSC: Side Scutter, complejidad citoplasmática.

Tak: Kinasas asociadas a Tat.

TAR: Región sensible a la transactivación.

Tat: Transactivador transcripcional del virus HIV-1.

TGF-B: Transforming growth factor Beta.

Th-1: Linfocitos T helpers que estimulan a los macrófagos.

Th-2: Linfocitos T helpers que activan la respuesta humoral de las células B.

TNF α : Factor de necrosis tumoral α .

3TC: Lamivudina.

VCAM-1: Molécula de adhesión vascular celular.

VLA1/2/3: Antígeno de activación posterior muy tardío.

VLA-4: Integrina, antígeno de activación posterior muy tardío-4.

ZDV: Zidovudina.

CAPITULO 1

1.1 Introducción y estado de los conocimientos actuales.

Desde que Ilya Metchnikoff expuso su teoría de la fagocitosis (Phagocytosis: comer; osis: proceso) en 1882 en su trabajo “La inmunidad de las enfermedades infecciosas”, enormes han sido los progresos en esta área del conocimiento. Básicamente este proceso se describe como la captura de un agregado macromolecular desde el exterior de una célula hacia el interior de su citoplasma. La partícula es rodeada por la membrana celular y la lámina interna de la membrana se transforma en la externa del fagosoma. Sin embargo para que este proceso se produzca en los leucocitos es necesario habitualmente la presencia de suero. De este modo lo describió sir Almorth Wright en 1903. El conjunto de factores séricos que permiten que esto ocurra fueron denominados, en el pasado, opsoninas. Hoy en día los identificamos como Anticuerpos y sistema del Complemento. A estos últimos se los conoce como inmunidad humoral mientras que a la primera se la denomina inmunidad celular inespecífica. Los conocimientos sobre inmunidad humoral fueron investigados inicialmente por P. Ehrlich el cual junto a Metchnikoff compartió el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1908. ¹

La fagocitosis es una actividad esencial para combatir a los microorganismos patológicos y su ausencia o alteración severa es incompatible con la vida. Las células encargadas de la fagocitosis son los neutrófilos polimorfonucleares, los eosinófilos y los monocitos. Los neutrófilos se producen en la médula ósea y luego de atravesar la barrera hemato-medular circulan alrededor de unas seis horas. Al cabo de ese lapso se depositan en la red capilar y allí quedan acantonados hasta que reciben un estímulo quimiotáctico que los

estimula para migrar desde el endotelio en donde se encuentran hacia el espacio extravascular. Los órganos preferenciales de estas células son los pulmones, el hígado y el bazo. El proceso de la fagocitosis puede ser deficiente en distinto grado y en diferentes formas y esto se debe tanto a enfermedades congénitas así como adquiridas. El proceso de fagocitosis y la destrucción subsecuente del microorganismo fagocitado puede estar alterado o incluso ausente. Las causas de la falla luego de ocurrida la fagocitosis pueden deberse a un bloqueo de la unión del fagosoma con los lisosomas o por bloqueo de generación de radicales oxidantes. Esta actividad puede detectarse por diversos métodos, entre ellos: métodos basados en la medición de quimioluminiscencia o en detección de la producción de NADPH o NADH, por métodos citoquímicos como el Nitro-azul de tetrazolio.² Los neutrófilos contienen gránulos estos corresponden a lisosomas. Se distinguen en ellos dos tipos de granulación una llamada primaria y otra secundaria. Esta última aparece luego que la célula se encuentra comisionada hacia cada una de las progenies originadas a partir de las Unidades formadoras de colonias granulocíticas y estas serán: Eosinófilos, basófilos, o neutrófilos. En el contenido de los gránulos primarios se encuentran mieloperoxidasa, elastasa, lisozima y proteínas catiónicas en los gránulos secundarios que aparecen a partir de la etapa de mielocito comisionado a cada una de las series. Los gránulos secundarios son ricos en el caso de los neutrófilos en lactoferrina y colagenasa. Los gránulos primarios son llamados azurófilos y este nombre proviene del color que toman con la coloración de Wrigth. En nuestro medio se utiliza de rutina para el estudio de los extendidos de sangre periférica, médula ósea o improntas de ganglio la coloración de May Grünwald- Giemsa y con ella dichos gránulos se ven violáceos y no azules. Esta es una de las combinaciones panópticas de Pappenheim derivada de las fórmulas de Romanowsky.^{3,4} En la membrana de los neutrófilos se expresan moléculas

receptoras para componentes del sistema del complemento, anticuerpos y componentes de la matriz extracelular tales como: selectina, fibronectina y fibrinógeno.

Las bacterias cubiertas con anticuerpos o complemento activan estos receptores los cuales, algunos de ellos, se internalizarán y provocarán activación del citoesqueleto para la emisión de pseudópodos que envolverán al microbio.

Los receptores para quimiotaxinas se internalizan, son reemplazados por otros y provocan la migración de la célula.

Proteínas de lizado de *Candida albicans* son utilizadas para estimular a los neutrófilos en pruebas in vitro.⁴ Los neutrófilos son la primera y esencial fuerza de choque frente a un intento de alterar el equilibrio que existe entre las distintas poblaciones celulares que integran nuestro organismo. Una población ajena que ponga en peligro todo el sistema será repelida enérgicamente. Los organismos pluricelulares complejos parecen haber alcanzado el grado máximo en la expresión del colonialismo celular que se inicia en celenterados y primitivos metazoos.⁵

Los neutrófilos por ser una célula final que ya no se reproduce no han resultado atractivos para el estudio de la mayoría de los investigadores, sin embargo sin ellos es imposible la supervivencia del resto de las poblaciones celulares que integran a un ser humano. Puede estar intacto el resto del sistema inmune pero sin ellos los mecanismos más sofisticados de defensa celular son insuficientes. Son las neutropenias las que permitirán la invasión por hongos y bacterias y la posterior muerte de enfermo.

Hasta el advenimiento de los llamados factores estimulantes de colonias granulocítico (G-CSF) y granulocítico macrofágico (GM-CSF) los pacientes sometidos a

tratamientos con agentes citostáticos, antiretrovirales y antibióticos que llevaban a una aplasia medular, debían afrontar severos riesgos. Ante una infección micótica, no obstante disponer de anfoterizina B, fluconazol o itraconazol, si no se elevaba el número de neutrófilos, un final ominoso era la culminación de la complicación infecciosa. Para evitar ésto muchas veces era necesario suspender el tratamiento de la enfermedad de base; y ésto traía el consabido riesgo de recaída o progresión de la enfermedad primaria.

El advenimiento de los factores estimulantes de colonias granulocítico (G-CSF) y granulocítico macrofágico (GM-CSF) ha permitido estimular el pool de reserva medular, desde el mielocito en adelante, con la primera droga y la producción y diferenciación desde las unidades formadoras de colonias granulocíticas y macrofágicas con la segunda.⁵

Los eosinófilos también son células fagocíticas, tienen cierta especialización en la respuesta contra infecciones parasitarias y su proliferación y activación se ve relacionada con la actividad linfocitaria Th2, a través de IL5.^{6,78} In vitro se ha puesto en evidencia la fagocitosis de los eosinófilos pero con menor cantidad de partículas en comparación con los neutrófilos.^{5,9}

Los monocitos son células fagocitarias que junto con los neutrófilos atrapan y destruyen a gérmenes patógenos, antígenos y desechos celulares. También actúan como células presentadoras de antígenos y productoras de citoquinas, en la lisis de células tumorales independientes de anticuerpos, citotoxicidad dependiente de anticuerpos, inhibición de proliferación celular, son productores de enzimas e inhibidores enzimáticos, factores de coagulación, componentes de la cascada del complemento, eicosanoides, metabolitos oxido-reactivos y otras moléculas y proteínas.^{10,11} La vida media de los monocitos circulantes en el ratón es de 17 horas y el tiempo de tránsito total es de 24 horas.

En el hombre el tiempo de tránsito es mayor y se dirigen hacia distintos tejidos interviniendo las llamadas moléculas de adhesión. Estas moléculas presentes en distintas células de la respuesta inflamatoria, pueden actuar como receptores o ligandos, según el caso, y, permiten la comunicación de señales entre ellas. Los monocitos expresan proteínas heterodímeras en la superficie celular como el antígeno asociado a función linfocitaria-1 (LFA-1), C3bi receptor para complemento (CR3), pl 50,95, y el antígeno de activación posterior muy tardío-4 (VLA-4) los cuales corresponden a la subclase de integrinas β_1 y β_2 de la superfamilia de las moléculas de adhesión. Los monocitos son detenidos o retrasados por moléculas, como la selectina (CD62) de las células endoteliales de la pared de los vasos sanguíneos, éstas actúan como moléculas complementarias de adhesión. El movimiento dentro de los tejidos es facilitado por otras moléculas de adhesión (integrinas). En la membrana del monocito los receptores LFA-1 y VLA-4 interactuarán con moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1), la molécula de adhesión de la célula vascular endotelial-1 (VCAM-1), la proteína granular de membrana-140 (GMP140), la molécula de adhesión leucocitaria endotelial-1 (ELAM-1) de la célula endotelial. Estas moléculas no se expresan o lo hacen solo en mínima cantidad en las células no activadas y aumentan su expresión por acción de mediadores de la inflamación como ciertas citoquinas: Interleukina 1 (IL-1), IL-4, interferon γ (IFN γ) y factor de necrosis tumoral α (TNF α). Estas citoquinas pueden regular la expresión de las moléculas de tipo β_1 y β_2 en la membrana del monocito, junto con quimiotaxinas como C5a, IL8, factor activador plaquetario (PAF) y leucotrieno B4 (LTB4). También intervienen los receptores CD14 y CD31 del monocito. Otras moléculas como VLA1/2/3, Mac-1 y CD44 tiene como ligando al fibrinógeno, la fibronectina y otras proteínas de la matriz extracelular. Estas moléculas de adhesión

permiten la marginación, el enlentecimiento en circulación con movimientos de translación, el detenimiento para contactarse con las células endoteliales, la activación y cambio estructural, todo lo cual favorece la trans migración a través del endotelio. Los macrófagos desarrollan especificidades en los distintos tejidos donde se alojan en los cuales, se los ha denominado de diferente forma. En cerebro: microglia, hueso: osteoclastos, sinovial: células sinoviales A, tejido conectivo: histiocitos, bazo: macrófagos, hígado: células de Kupffer, riñón: células mesangiales, nódulos linfáticos: monocitos residuales y recirculantes. En sus capacidades de movilidad y fagocitosis son similares a los neutrófilos, una vez que fagocitan pueden aumentar la producción de radicales libres del oxígeno (oxígeno singlete, oxihidrido, anión superóxido) que puede demostrarse por técnicas de quimioluminiscencia o por citoquímica como el Nitro blue de tetrazolio (NBT). Los macrófagos alojados en los distintos tejidos pueden reclutarse al sistema sanguíneo a sitios de injuria tisular e inflamación.^{12,13,14}

A partir de células CD34⁺^{15,16} y monocitos CD14⁺^{17,18} con el estímulo de IL-4, TNF alfa y GM-CSF es posible generar células dendríticas (CD). Las CD se describieron por primera vez, en la piel, en 1868 por Langerhans. En 1973 Steinman y Cohn las encontraron en bazo y ganglios linfáticos de ratón.¹⁹ Integran las CD una serie de poblaciones celulares que incluyen a las células de Langerhans de la piel y las células relacionadas de tejidos epiteliales (CL), las CD interdigitantes del bazo y ganglios linfáticos (CDi), CD de centros germinales (CDcg) y CD del Timo (CDt). Se estableció que las LC maduran a Cdi luego de la captura del antígeno en su migración hacia los ganglios a través de los vasos linfáticos.²⁰ En sistemas de cultivo líquido a partir de CD34⁺ con IL-4 y GM-CSF se pueden obtener CL, y si éstas se incuban con TNF alfa, en 48 horas maduran a CD.

Éstas células son estimulantes de respuestas inmunes primarias muy potentes y de forma más efectiva que otras células presentadoras de antígenos (CPA). Ésto es debido a la gran cantidad de expresión de moléculas de adhesión y a las HLA de clase II que aportan una segunda señal para la inducción de la respuesta inmune. Lo cual las convierte en capaces de disparar una respuesta T primaria.²¹ Las CL se especializan en la captura de antígenos ya sea por fagocitosis o pinocitosis y en esta etapa no activan a los linfocitos T en forma eficaz. Luego de una reacción inflamatoria local migran hacia los ganglios, ya sea a través de los vasos sanguíneos o linfáticos. Durante ese trayecto pierden la capacidad fagocítica y adquieren la de activar a las células T.²² Las CD estimulan la diferenciación de las células T en T citotóxicas, en Th-1 que estimulan a los macrófagos, Th-2 que activan la respuesta humoral de las células B.

Los linfocitos T no reconocen antígenos nativos, para que estos sean reclutados como células antígeno específicas, es necesario que se forme un complejo formado por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y péptidos antigénicos presentados en la superficie de las CPA.

Cuando una partícula extraña es llevada por el torrente sanguíneo puede unirse a inmunoglobulinas y a fracciones de complemento como C3b y C3bi que actúan como opsoninas. Éstas facilitan la fagocitosis al permitir la unión de la partícula opsonizada a los receptores específicos Fc y del complemento de la membrana celular de los fagocitos. En este proceso pueden participar receptores que reconocen oligosacáridos en la pared celular de algunos microorganismos, como el receptor para la manosa y el de formil péptidos. Cuando esto ocurre el proceso de ingestión se inicia con la activación del sistema contráctil de fibrillas de actina y miosina del citoesqueleto el cual emitirá un pseudópodo alrededor

de la partícula. Los receptores adyacentes se adherirán secuencialmente a la membrana y empujarán alrededor en forma de cierre de cremallera, hasta que la partícula esté completamente rodeada y se produzca la endocitosis.^{23,24} Una vez dentro del fagosoma una serie de mecanismos se ponen en funcionamiento para lisar al microorganismo. La cadena respiratoria anuncia un incremento en la formación de compuestos de oxígeno intermediarios (ROIs) como el anión superóxido (O_2^-) radicales oxidrilos (OH^\cdot) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Compuestos oxidantes como el óxido nítrico (NO) que pueden reaccionar con los radicales libres del oxígeno, formando compuestos más tóxicos, y metabolitos de hierro y triptofano, también, inhiben el crecimiento o invaden a los microorganismos. Enzimas como la lisozima, la beta galactosidasa y las fosfatasas contribuyen a la lisis. La combinación de peróxido, mieloperoxidasa e iones halógenos son una mortal combinación para la mayoría de los patógenos inclusive el HIV. Estas armas químicas representan también una amenaza contra el propio macrófago, para evitar su propia destrucción se encuentran dentro de vesículas o burbujas denominadas lisosomas.^{25,26,27,28,29,30,31}

El monocito-macrófago luego de destruir al microbio rompe y procesa fracciones de antígeno que lleva al sistema retículo endotelial donde se unen a las moléculas de histocompatibilidad de clase II (en caso de tratarse de un antígeno endógeno será al de clase I), y de esta forma es transportado a la superficie de la membrana celular para ser presentado a los linfocitos T helper en el caso de clase II, o citotóxico en el caso de clase I.

Las células T tienen receptores en su superficie capaces de reconocer y anclarse a la combinación de MHC- antígeno procesado. Esto incentiva la proliferación y la producción de citoquinas tales como los interferones α y γ . La combinación de estas citoquinas

coordinarán una intensa respuesta inmune, como consecuencia de la intrusión de un antígeno. Por último, los macrófagos son capaces de producir por ellos mismos una serie de citokinas. Ellos expresan receptores con los cuales se unen a otras células y responden a un programa previo. Por ejemplo la IL-1 α , IL-6 y TNF α provocarán fiebre y sueño. Éstas y otras citoquinas actuarán como gatillo o supresores de las actividades de todas las células involucradas en la respuesta inmune. Las mutuas acciones pueden ser aditivas, antagónicas o neutrales y esto diferencia a una respuesta inmune controlada de una descontrolada frente a un estímulo antigénico. Estas acciones serán cruciales en el tiempo, oportunidad y efecto de la liberación de citokinas dentro de la región inmediata.^{32,33}

La inmunidad también puede estar afectada en la función de los linfocitos T o en la producción de inmunoglobulinas, cuyos desarrollos escapan al tópico de este estudio.

La utilización cada vez más amplia de los factores estimulantes de crecimiento de colonias (G-CSF: granulocítico y GM-CSF: granulocítico macrofágico), en los pacientes neutropénicos obliga a conocer e investigar la capacidad fagocitaria y germicida de los neutrófilos generados por la administración de estas citoquinas, en especial frente a infecciones fúngicas en huéspedes inmunocomprometidos.

Entre las enfermedades congénitas que afectan la fagocitosis encontramos: Defectos en la movilidad y adherencia, tales como el Síndrome de Job, con aumento de IgE y alteración en la quimiotaxis; y el déficit combinado de CD11 y CD18 (LFA-1), alteración en la adherencia. Defectos bactericidas: Enfermedad de Chediak-Higashi (bactericida y quimiotaxis). Falla en la vía oxidativa, enfermedad granulomatosa crónica.

Deficiencias en el sistema del complemento también la afectan la fagocitosis sobre todo cuando esté involucrada la primera etapa, (C3b compromete fagocitosis, su receptor es

el CD35 y también podría estar disminuido); C9 con lisis celular; C1q con la inactivación viral. En general la alteración sobre C3 se manifestará con septicemias neumó y meningococcica y las del complejo lítico por *Neisseria*. Las alteraciones en la primera etapa originan enfermedades parecidas a las producidas por complejos inmunes.^{34,35,36}

Algunos gérmenes pueden evadir la fagocitosis y para ello se valen de diferentes mecanismos. La *Bordetella pertussis* produce dos toxinas distintas que inhiben la migración y la movilidad. Las leucocidinas producidas por *Staphylococcus*, *Streptococcus A*, *Pseudomonas*, y *Clostridium* provocarían un efecto similar. Las bacterias capsuladas evaden la fagocitosis hasta que se recubren de anticuerpos. Una vez fagocitados algunos microbios pueden evadirse, las *Rickettsias* se escapan al citoplasma; las micobacterias, las *Chlamydas* y *Legionellas* inhiben la fusión lisosoma-fagosoma, los *Staphylococcus* y la *Legionella* pueden inhibir la vía oxidativa. El *Meningococo*, el *Gonococo* y el *Haemophilus* clivan la zona bisagra de las IgA-1. Sin embargo los neutrófilos también desarrollaron mecanismos para evitar esto. Las *Rickettsias* cubiertas por anticuerpos no pueden escapar al citoplasma, y las *Legionellas* no pueden inhibir la unión fagosoma-lisosoma. La producción de antitoxinas también colabora para evitar la fuga, así como la activación del complemento por la vía alterna y el bloqueo de la unión de los *Streptococcus* y enterobacterias a las células epiteliales por efecto de los anticuerpos.^{37,38}

1.2 Alteraciones hematológicas en la infección por HIV.

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1) puede originar diferentes complicaciones hematológicas, algunas de las cuales pueden resultar en importantes secuelas clínicas.

Las citopenias son complicaciones relativamente comunes en la infección por HIV-1^{39,40,41} como resultado tanto de una falla de médula ósea o de una vida disminuida de las células maduras. A las citopenias se suman alteraciones funcionales de los leucocitos y plaquetas. En los mecanismos que desencadenan los cambios cualitativos y cuantitativos leucocitarios intervienen múltiples factores.^{42,43,44,45}

Los anticuerpos anticardiolipina, la deficiencia adquirida de proteína S o un anticoagulante lúpico son un hallazgo frecuente en asociación con infección por HIV, sin embargo, rara vez han sido reportados junto con eventos trombóticos que acompañan usualmente a estas alteraciones en pacientes HIV negativos.

Además de las citopenias y las coagulopatías, asociado a la infección por HIV se ha descrito un síndrome que asemeja a una clásica púrpura trombótica trombocitopénica. A veces esta se presenta o progresa con crisis hemolíticas-urémicas.

Tanto las citopenias como el fracaso funcional leucocitario o la falla hemostática por trombocitopenia disminuyen la calidad de vida y son una patología agregada, que condiciona o impide el tratamiento de la enfermedad viral primaria, de las infecciones oportunistas y de los cánceres asociados.⁴⁶

Las nuevas terapias antivirales, la incidencia y las características de las complicaciones hematológicas han cambiado desde el inicio de la epidemia, junto con

otras alteraciones morbosas relacionadas con la infección por HIV. Las opciones de tratamiento para estas condiciones han mejorado durante los últimos años.

Citopenias

En este aspecto hay que considerar la acción citotóxica medular de los agentes antirretrovirales, antibióticos, agentes fungicidas, antituberculostáticos y antineoplásicos que se suman a la acción del virus. La leucopenia es concomitante con la anemia en la mayoría de las veces y resulta de una granulocitopenia asociada o no con monocitopenia. La plaquetopenia puede ocurrir en cualquier momento de la enfermedad e incluso aparecer en distintas etapas en un mismo paciente y ser provocada por mecanismos diferentes.

Las alteraciones citomorfológicas más características en los neutrófilos son: Anomalia de tipo Pelgher Huet adquirida (Hiposegmentación nuclear), hipogranulación citoplasmática o aparición de granulaciones de tipo tóxicas, cuerpos de Döhle, con menos frecuencia, hemos observado la aparición de una granulación citoplasmática única, que se ubica en el borde citoplasmático y que tiene afinidad tintorial basófila con la tinción de May Grunwald-Giemsa; vacuolización citoplasmática y nuclear suelen aparecer acompañando a algún evento infeccioso oportunista. En los monocitos suelen verse ventanas nucleares y vacuolas citoplasmáticas. Linfocitos de tipo irritativo (inmunocitos), células de Türk (citoplasma hiperbasófilo), también son frecuentemente observados. En etapas finales o ante un período de replicación viral intenso es habitual encontrar linfopenia con recuentos relativos de 10 u 8% o aún menores acompañados por una neutrofilia real con leucopenia discreta, sin llegar a la neutropenia pero con un valor en el recuento absoluto de blancos inferior al esperado para un evento infeccioso bacteriano